基因序列在蚜虫分子系统发育研究中的应用

张合彩[1,2]，乔格侠[1*]

（1. 中国科学院动物研究所，北京 100080；2. 中国科学院研究生院，北京 100039）

摘要：总结了核基因和线粒体基因在半翅目蚜虫分子系统发育研究中的应用。核基因中 EF-1α 应用最广泛，适用于探讨属级及属以上的问题；核 rDNA 在蚜虫中应用较少，18S rDNA 适用于探讨科级以上高级阶元的问题；LWO 是新近在蚜虫中开发使用的一个新基因。线粒体基因中，COⅠ/COⅡ使用最多，12S rDNA/16S rDNA、ND1、Cyt b 以及 F-ATP6 均有应用，探讨的问题从属、种级到科级不等。核基因和线粒体基因间以及不同线粒体基因间的联合分析在解决不同层次的问题中均有应用。建议不断尝试新基因以找出适合蚜虫类群的"标准基因"。并对未来蚜虫分子系统发育研究趋势进行了展望。

关键词：蚜科；分子系统学；核基因；线粒体基因

中图分类号：Q969 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2006)03-0521-07

Application of gene sequences in molecular phylogenetic study on Aphididae (Hemiptera)

ZHANG He-Cai[1,2], QIAO Ge-Xia[1,*] (1. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; 2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The application of nuclear and mitochondrial gene sequences in the molecular phylogenetics of Aphididae (Hemiptera) is summarized, with a special focus on the scientific problems which they can resolve. Among the nuclear genes, sequences of EF-1α are used most widely, and they are fit for studying the phylogenies at genus or higher levels; nuclear rDNAs are used less in aphids' phylogeny analysis, LWO is a new marker developed in aphids, and both of them are applicable for higher-level taxa above family. Among the mitochondrial genes, the most often used markers are COⅠ/COⅡ. 12S rDNA/16S rDNA, ND1, Cyt b and F-ATP6 are also used in Aphidinea phylogeny reconstruction. Combined analyses are performed between nuclear genes and mitochondrial genes, as well as among different mitochondrial genes. New genes should be explored, and "standard markers" need to be found in aphids. The prospects of molecular systematics in Aphidinea in the future are also discussed.

Key words: Aphididae; molecular phylogenetics; nuclear genes; mitochondrial genes

蚜科(Aphididae)隶属于半翅目(Hemiptera)[传统记述为同翅目(Homoptera)胸喙亚目(Sternorrhyncha)蚜总科(Aphidoidea)(张广学和钟铁森，1983)]，包括 25 个亚科(Remaudière and Remaudière, 1997)。除了蚜科这个胎生的大类群外，蚜虫类还包括种类为数不多的卵生类群球蚜科和根瘤蚜科(Börner, 1952; Raychaudhuri, 1980; 张广学和钟铁森，1983)。世界已知有蚜虫 4 400 余种(Blackman and Eastop, 1994; Remaudière and Remaudière, 1997)，主要分布在北半球(Dixon, 1990)。蚜虫是一类吸食植物韧皮部汁液的昆虫，大部分为重要的农林经济害虫，也有少数种类是益虫。蚜虫中大部分种类生活史复杂，营典型的异寄主全周期生活，在原生寄主和次生寄主之间进行季节性迁移(Moran, 1992; Blackman and Eastop, 1994)。同种蚜虫在其原生寄主和次生寄主上的形态往往明显不同(Heie, 1980; Moran, 1988; Blackman and Eastop, 1994)。目前蚜虫的分类主要还是依据形态性状，然而形态性状的趋同导致可用的同源性状减少，同时由于蚜虫存在典型的多型现象以及不同寄主时期的

基金项目：国家自然科学基金项目(30270171, 30570214)；国家基础科学人才培养基金项目(NSFC-J0030092)
作者简介：张合彩，女，1977 年生，河南人，博士研究生，研究方向为蚜虫分子系统学与进化，E-mail：zhcai2005@ioz.ac.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail：qiaogx@ioz.ac.cn
收稿日期 Received：2005-12-19；接受日期 Accepted：2006-04-13

形态差异使得蚜虫分类系统非常不稳定(Stern *et al*., 1997),严重影响了蚜虫的鉴定和利用。

随着蚜虫类群研究的不断深入和领域的不断拓展,加之蚜虫具有形成虫瘿、蚁伴生以及产生兵蚜等一系列特殊的生物学及行为学特征(Moran, 1988, 1989; von Dohlen and Gill, 1989; von Dohlen, 1990, 1991; Wool and Burstein, 1991; Stern and Foster, 1996; Stern, 1994, 1995, 1998; David *et al*., 2001; Inbar, 2004; Wool, 1984, 2004; Shingleton *et al*., 2005),目前蚜虫系统发育及进化的研究已经成为该类群研究的热点。然而单纯基于形态及生物学性状的支序分析往往由于性状的极性难以把握而使结果不尽可靠,这就使得分子手段的介入成为必然。

分子系统学是检测、描述并解释生物在分子水平的多样性及其演化规律的学科(黄原, 1998),通过现代分子生物学技术,获得物种特定遗传标记的大量数据,然后把这些数据进行相关的数学分析,对研究结果进行解释(窦向梅等, 2005)。从生物大分子的信息推断生物进化历史,或者说'重塑'系统发生(谱系)关系,并以系统树的形式表示出来,这就是分子系统学的任务。近几年来由于自动测序技术的发展,DNA 测序越来越多地被广泛采用,从而使分子系统学的研究更加深入。本文以 NCBI(national center for biotechnology information)的核酸序列数据库 GenBank 中与蚜虫系统发育相关的序列为对象,总结了目前在蚜虫中主要基因序列的使用情况及使用这些序列所解决的科学问题,以期对未来蚜虫类以及其他昆虫类群系统发育研究提供有益指导。

1 蚜虫研究中所使用的主要基因标记及基因测序概况

蚜虫分子系统学研究中常用的核基因包括蛋白编码基因延伸因子 1-α 基因 EF-1α(elongation factor-1α)、视长蛋白基因 LWO(long-wavelength opsin)以及核糖体基因 18S rDNA、28S rDNA、5.8S rDNA、ITS 等;常用的线粒体基因包括 CO Ⅰ(cytochrome oxidase subunit Ⅰ)、CO Ⅱ(cytochrome oxidase subunit Ⅱ)、12S rDNA、16S rDNA、ND1(the subunit 1 of NADH dehydrogenase)、Cyt b(cytochrome b)、F-ATP6(the subunit 6 of F-ATPase complex)等。随着分子系统学研究的迅速发展,越来越多的基因片段被用于解决不同的问题。

目前蚜虫类分子系统学研究的焦点主要集中在卵胎生的蚜科,而卵生的球蚜科和根瘤蚜科由于种类较少尚没有相关研究。本文采用最新的目前普遍认可的蚜科包括 25 个亚科的系统(Remaudière and Remaudière, 1997),有些作者采用 Börner(1952)及 Raychaudhuri(1980)的系统,在引用时都做了相应调整。为了更好的理解蚜虫类各基因的使用情况,从 NCBI 检索各基因序列,并统计各亚科中用于系统发育的序列条数(表 1)。

在蚜科中,对于核基因和线粒体基因的各个片段使用情况明显不同。目前获得的 CO Ⅰ、CO Ⅱ 序列最多,其次是 EF-1α。获得序列最多的 4 个亚科是大蚜亚科(Lachninae)、扁蚜亚科(Hormaphidinae)、蚜亚科(Aphidinae)和瘿绵蚜亚科(Pemphiginae)(表 1)。

表 1 蚜科分子系统发育研究中已测序的基因序列统计(数据来源于 GenBank,统计截至日期为 2005 年 10 月)

Table 1 Statistical analysis of gene sequences used in the molecular phylogenetics of Aphididae (from GenBank, up to October, 2005)

亚科 Subfamily	总序列 Total sequences	核基因 Nuclear genes EF-1a	LWO	18S rDNA	线粒体基因 Mitochondrial genes CO Ⅰ	CO Ⅱ	CO Ⅰ/CO Ⅱ *	12S/16S rDNA	ND1	F-ATP6
毛管蚜亚科 Greenideinae	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0
纩蚜亚科 Mindarinae	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
平翅绵蚜亚科 Phloeomyzinae	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
扁蚜亚科 Hormaphidinae	134	25	1	0	0	30	58	20	0	0
群蚜亚科 Thelaxinae	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1
瘿绵蚜亚科 Pemphiginae	53	0	5	1	17	15	0	8	0	7
短痣蚜亚科 Anoeciinae	3	0	1	0	0	0	0	2	0	0
大蚜亚科 Lachninae	223	49	3	0	147	0	15	3	0	6
蚜亚科 Aphidinae	121	38	4	0	0	21	16	21	16	5
毛蚜亚科 Chaitophorinae	20	0	1	0	0	0	16	2	0	1
跳蚜亚科 Saltusaphidinae	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
镰管蚜亚科 Drepanosiphinae	3	0	1	0	0	0	0	1	0	1
叶蚜亚科 Phyllaphidinae	10	0	2	0	0	0	0	6	0	2
总计 Total	574	112	19	1	164	66	105	68	16	23

* 指 CO Ⅰ、CO Ⅱ 及二者之间的 Leu-tRNA 作为一个整体的联合序列。

* A unitary combine sequence, including CO Ⅰ, CO Ⅱ and Leu-tRNA between CO Ⅰ and CO Ⅱ.

2 不同基因序列在蚜虫分子系统学中的应用

2.1 核基因

2.1.1 EF-1α：EF-1α 即延伸因子-1α（elongation factor-1α）基因，是一个带有内含子的单拷贝核基因（Normark，1999），其编码产物是在真核生物蛋白合成的延伸阶段起作用的一个辅助蛋白因子，该基因在蚜虫中使用较为普遍。Normark（2000）使用核基因 EF-1α 和线粒体基因 COⅡ 对大蚜亚科（Lachninae）进行了分子系统学及进化的研究，结果显示单独使用 EF-1α 与联合 EF-1α 和 COⅡ 所得结果并不冲突，大部分族的单系性都得到了有力支持，并且联合分析（combined analysis）还支持大蚜族（Lachnini）取食针叶是较为原始的特征。Favret 和 Voegtlin（2004）用 EF-1α 和 COⅠ 序列分别构建了大蚜亚科长足大蚜属 *Cinara* 的系统发育树，结果显示二者拓扑结构一致，都是根据在寄主植物上的位置而明显构成 3 个单系，于是得出了寄主转移在长足大蚜属成种事件中起关键作用的结论。Moran 等（1999）用 EF-1α 和线粒体基因在蚜亚科指网管蚜属 *Uroleucon* 开展了分子系统发育研究，结果发现由 EF-1α 序列数据集、线粒体基因序列数据集及联合二者的数据集得到的系统发育树的拓扑结构彼此基本一致，这也说明 EF-1α 不仅适用于高级阶元而且也适用于属这样的较低级阶元的系统关系重建；基于该项研究作者得出了该属的主要分支情况，并且就该属当前亚属的分支正确性、与寄主植物的协同演化、起源时间及洲际间的转移等问题提出了一些见解。von Dohlen 等（2002）研究了扁蚜亚科（Hormaphidinae）EF-1α 基因的部分序列，结果显示只用 EF-1α 数据所构建的系统发育树与联合 EF-1α 和 Leu-tRNA/COⅡ 所得系统发育树的拓扑结构非常相似。基于 EF-1α 和线粒体 Leu-tRNA/COⅡ 序列由最大简约法和最大似然法所得系统发育树都明显支持五节扁蚜属 *Hamamelistes* 和扁蚜属 *Hormaphis* 这两个属的单系性，每个单系都包括日本和北美两个分支；作者还推断在这两个属中亚洲支和北美支的分歧时间在距今 2～3 千万年前，这恰巧与蚜虫可能与它们的寄主植物经历同样的隔离分化事件的假说相吻合。

EF-1α 在除蚜虫之外的其他类群中也有广泛使用，较适用于属级及属以上阶元的系统发育分析。尽管其单拷贝性在某些类群中已受到质疑（Danforth and Ji，1998；Hedin and Maddison，2001），但在整个昆虫类中找出一个单拷贝的核蛋白编码基因几乎是不可能的情况下（Caterino *et al*.，2000），EF-1α 仍不失为一个有较好应用前景的标记。

2.1.2 核 rDNA（18S rDNA，28S rDNA，5.8S rDNA，ITS）：rDNA 是一类中度重复的 DNA 序列，以串联多拷贝形式存在于染色体 DNA 中，每个重复单位由包括 3 种 RNA（18S、28S 和 5.8S）的基因编码区、转录间隔区（internal transcribed spacer，ITS）和非转录间隔区（non-transcribed spacer，NTS）组成（Tautz *et al*.，1988）。rDNA 是生物界普遍存在的基因，在个体及种群内有较好的均一性，是生物系统进化研究中一个非常有用的分子标记（窦向梅等，2005）。

rDNA 在蚜虫类中使用较少，然而该标记在其他昆虫类群中应用相当广泛（Cameron *et al*.，1992；Gauthier *et al*.，2000；Goolsby *et al*.，2001）。在 28S rDNA 中常用的是其 D2 区，探讨的问题从种级到科级不等，也有一些作者认为 28S rDNA 更适于科级以上的系统发育分析（Martin and Pashley，1992）。真核生物的 18S rDNA 包括 1 700～2 300 个碱基，其不同区域进化速率不同，对于解决不同层次的系统关系是一个非常有用的分子标记（Baverstock and Johnson，1990）。Sanchis 等（2000）在对 18S rDNA 进行测序的基础上，研究了茧蜂科蚜茧蜂亚科的系统发育关系，结果表明在族、亚族和属级水平上，18S rDNA 都能很好地解决问题。另有研究表明，18S rDNA 可用于科级以上水平的系统发育分析（Martin and Pashley，1992；Miller *et al*.，1997）。von Dohlen 和 Moran（1995）利用 18S rDNA 580～680 bp 片段构建了同翅目的系统发育树，证明同翅目是一个并系。ITS 目前已应用到很多无脊椎动物类群的分子系统学研究中，成为一个新的重要标记（窦向梅等，2005）。5.8S rDNA 的序列很短且高度保守，较少用于系统学研究（Einsele *et al*.，1997）。在蚜虫类中由于可下载的核 rDNA 序列很少，所以 rDNA 基因并未被蚜虫系统发育研究者们所看好。随着 rDNA 越来越多地被用于动物分子系统学研究，其优势的日益显现，或许不久的将来也会在蚜虫类中广泛使用并取得良好结果。

2.1.3 LWO：编码视长蛋白的基因 LWO（long-wavelength opsin）作为一个适于高级阶元系统发育重建的有潜力的基因最近越来越受到重视（Mardulyn and Cameron，1999）。Benjamín 等（2004）利用 LWO 基因研究了蚜科 7 亚科的系统发育关系。通过比较

他指出 LWO 基因序列比线粒体 F-ATP6 基因序列有更多的信息位点(informative site)。他的结论印证了以前所得蚜科的系统发育关系,并且也提出了一些新的见解,对前人(von Dohlen and Moran, 2000; David *et al*. 2001)的观点进行了一些修订。这也是 LWO 用于蚜虫类的首次尝试。

2.2 线粒体基因(mtDNA)

昆虫的 mtDNA 大小一般为 15.4~16.3 kb,以高拷贝数存在于生物体内,是一闭合环状双链 DNA。线粒体 DNA 的碱基替换率比核 DNA 高 5~10 倍,不含间隔区和内含子,无重复序列,很少发生不等交换,在遗传过程中不易发生基因重组、倒位、易位等突变。由于以上特点,mtDNA 已成为研究生物(主要是动物)进化的重要材料(张亚平,1996)。常用的 mtDNA 有蛋白编码基因 COⅠ/COⅡ、ND1、Cyt b 和 F-ATP6,核糖体基因 12S rDNA 和 16S rDNA。

2.2.1 COⅠ/COⅡ:COⅠ/COⅡ基因是昆虫系统发育研究中使用广泛的一个基因。COⅠ、COⅡ及间隔的 Leu-tRNA 常常当作一个标记来联合使用,一些研究者也把 COⅠ和 COⅡ或者 Leu-tRNA/COⅡ分开作为两个独立的标记来扩增。Inbar 等(2004)联合 COⅠ和 COⅡ序列(1 952 bp)探讨了瘿绵蚜亚科(Pemphiginae)五节根蚜族(Fordini)成瘿蚜虫的虫瘿演化,提出虫瘿是向着有利于截获更多的营养物方向演化的。Moran 等(1999)获得了蚜亚科指网管蚜属 *Uroleucon* 14 个种的 COⅠ/Leu-tRNA/COⅡ的全序列(1 462 bp),并联合 EF-1α 及 ND1 序列数据(共 4 287 bp)研究了该属的系统发育关系和进化。Shingleton 和 Stern(2003)利用线粒体 COⅠ/COⅡ序列构建了毛蚜亚科毛蚜属 *Chaitophorus* 15 种的系统发育关系,并且首次在同翅目蚁访蚜虫中阐明了蚜蚁共栖现象的进化模式。除了蚁伴生,蚜虫中另外一个有趣的现象——社会性,也由 Stern(1994)进行了研究,他依据 COⅠ/COⅡ序列分析了扁蚜亚科(Hormaphidinae)的系统发育关系并阐释了扁蚜中兵蚜的的演化。COⅠ/COⅡ不仅常用于蚜虫的系统发育分析而且在蚜虫生活周期和分类推断方面也是有帮助的。Stern 等(1997)检验了分子数据在蚜虫生活周期和分类鉴定推断中的应用,他们使用 COⅠ/COⅡ序列识别了 5 个种的同物异名,并据此阐明了这 5 个种的完整生活周期,所有分子数据都和现有形态数据相吻合。这充分证明了 COⅠ/COⅡ序列比较在阐释昆虫复杂生活周期和辅助难鉴定昆虫类群分类等方面是有益的。Shufran 等(2000)对在美国发现的所有麦二叉蚜 *Schizaphis graminum*(Rondani)(蚜亚科:蚜族)地理种群进行了基于 COⅠ基因 1.2 kb 序列的分子系统发育分析,所得到的所有树状图都表明麦二叉蚜包括 3 个单系,因此他认为麦二叉蚜是一个基因型分属于 3 个系支的多基因型复合种团,可能是因为适应不同寄主分化的结果。

2.2.2 12S rDNA/16S rDNA:在线粒体基因组中 12S rDNA 和 16S rDNA 之间被 Val-tRNA 隔开。16S rDNA 是使用较多的线粒体基因,该基因大小适中,常用于序列间进化速率范围的确定和系统学研究,证明它对于系统发育研究尤为重要(Simon *et al*., 1994; Raghava *et al*., 2000)。12S rDNA 和 16S rDNA 在昆虫中常常被单独用来研究某一类群的系统发育关系(Dietrich *et al*., 1998; Chen *et al*., 2002),但二者在蚜虫类中很少单独使用,而是联合其间的 Val-tRNA 作为一个标记使用。von Dohlen 和 Moran(2000)使用线粒体核糖体 DNA(12S rDNA/Val-tRNA/16S rDNA)序列重建了整个蚜虫类的系统发育关系,推断了蚜虫中寄主转换的起源次数和相关的重大寄主转移事件,他们的结论和蚜虫在族的水平上聚类有很高的支持率这一以前基于形态的研究结果相一致;蚜亚科和大蚜亚科是两个明显的单系,其他亚科内的族的单系性都得到了有力支持,但是族以上水平的系统发育关系没有得到良好重建。Moran 等(1999)联合 12S rDNA/16S rDNA 和另外两个线粒体基因以及核基因 EF-1α 研究了指网管蚜属 *Uroleucon* 的系统发育和进化关系。

2.2.3 ND1/Cyt b:ND1 是 NADH 脱氢酶的亚基 1,Cyt b 即细胞色素 b 脱辅基酶,二者都是线粒体基因组中的蛋白编码基因。在线粒体的蛋白编码基因中,Cyt b 基因应用最为广泛(牛屹东等,2001),但在蚜虫类中却应用不多。Figueroa 等(1999)利用 ND1/Cytb 的不同扩增来区分蚜亚科 *Sitobion* 属中两个形态上非常相近的种 *Sitobion avenae*(Fabricius)和 *S. fragariae*(Walker),同时也用了其他标记如 RAPD 和微卫星来证实这一结果。Moran 等(1999)在研究指网管蚜属 *Uroleucon* 的系统发育和进化时也联合了 ND1 及其他线粒体基因和核基因。但迄今尚未见 ND1 和 Cyt b 单独用于蚜虫的系统发育研究。

2.2.4 F-ATP6:F-ATP6 是编码 F-ATP 酶复合体亚基 6 的基因。相对于 COⅠ/COⅡ和 Cyt b,F-ATP6 在蚜虫的系统发育研究中应用较少。David 等(2001)研究了蚜虫的分子系统学及它们的原生内共生菌,他们基于蚜虫的 F-ATP6 基因序列重建了蚜虫的系

统发育树，并将此树和内共生菌基于 16S rDNA 和 F-ATP 酶复合体 β 亚基基因序列的系统树进行比较，探讨二者的协同进化。

2.3　数据的联合分析

数据的联合分析是指将不同来源的数据集联合起来进行分析，在同时分析联合性状的基础上建立系统树，这种系统树也称联合树（combined tree）（黄原，1998）。在分析过程中对不同进化特征的性状可给予不同的权值。近年来由于意识到从单一基因序列获得的系统发育关系不可靠，所以越来越多的分子系统学研究采用多基因序列（黄原和刘艳，2005），联合多个基因序列的性状数据集组成单个数据集进行分析，以使性状的描述和解释能力发挥最大功效，使随机误差降到最小，获得更为准确的系统发育关系。关于对数据集进行独立或联合分析的讨论有很多（Huelsenbeck *et al*.，1996；Baker *et al*.，1998），Cunningham（1997）认为数据的相合性和系统发育的准确性是紧密相关的，所以只要各基因的进化速率比较一致就可以合并在一起进行分析，即有条件的联合分析（conditional data combination，CDC）。可以用 ILD 检验（incongruence length difference test）即同质性检验来测试各数据是否一致（Farris *et al*.，1995）。

在数据的联合分析方面，核基因间、线粒体基因间、核基因和线粒体基因间以及分子数据和形态数据间都进行了很多联合分析的尝试。在蚜虫中大部分系统发育和进化方面的研究都是基于不同基因数据的联合分析。Normark（2000）联合线粒体基因 COⅡ和核基因 EF-1α 研究了大蚜亚科的分子系统学和进化。在指网管蚜属 *Uroleucon* 中，Moran 等（1999）联合线粒体基因 COⅠ/COⅡ、ND1、12S rDNA/16S rDNA 以及核基因 EF-1α 等 6 个基因片段来分析其系统发育和进化关系。Inbar 等（2004）联合 COⅠ和 COⅡ基因研究了五节根蚜族（Fordini）中成瘿蚜虫的虫瘿演化。

而对于分子数据和形态数据的联合分析，蚜虫类中尚没有类似工作开展。但是在其他昆虫类群中一些学者已经进行了分子数据与形态数据联合分析的尝试，以期得到更为可靠的系统发育关系，解决更大范围的系统发育问题，如 Shi 等（2005）联合 16S rDNA、28S rDNA D2 区、18S rDNA 和形态数据，分析了膜翅目茧蜂科的系统发育关系。

3　结语及展望

通过对半翅目蚜虫类系统发育研究中所使用的主要基因序列进行统计，并对使用不同的基因序列所探讨和解决的科学问题进行分析，发现：1）核基因中，EF-1α 大多和其他线粒体基因联合使用研究属及属以上阶元的系统发育关系，LWO 是新近在蚜虫中尝试使用的一个新基因，比较适合探讨科以上高级阶元的问题，rDNA 序列在蚜虫中应用较少；2）线粒体基因中，蛋白编码基因 COⅠ/COⅡ应用比较多，ND1/Cyt b 和 F-ATP6 也有应用，探讨的问题从种级到科级不等，12S rDNA/16S rDNA 适于属以上阶元；3）核基因和线粒体基因间以及线粒体基因间数据的联合分析在解决不同层次的问题中均有应用，但核基因间的联合分析以及分子数据和形态数据的联合分析在蚜虫系统发育与进化研究中尚没有应用。

通过分析发现许多分子标记的适用范围都不是绝对的，例如线粒体 rDNA 基因，一般认为其位于线粒体上，进化速率较快，比较适合较高阶元的系统发育分析。在 von Dohlen 等（2000）的研究中，用其构建了整个蚜虫类的系统发育树，除了蚜亚科和大蚜亚科形成单系之外，其他亚科都没有得到良好重建，尽管他们提出了一个快速辐射的进化假说来解释该系统树，但是传统形态学所支持的亚科在分子系统树上都未得到重建仍然为这个假说留下了疑问，我们不能不对该分子标记是否适于解决整个蚜虫类高级阶元的问题表示置疑。为使系统发育结果更加可靠，在一个特定的分类阶元上，可通过更加密集取样（densely sampling），或者增加其他标记以不断‘改进”分析结果（Caterino *et al*.，2000）。我们还发现蚜虫分子系统发育的研究已经从单纯的系统发育关系分析逐渐转向以构建系统发育树为着眼点，以探讨某进化问题为落脚点的综合分析和研究。如兵蚜的演化（Stern，1994），虫瘿的演化（Inbar *et al*.，2004）以及取食针叶的起源和演化（Normark，2000）等进化问题都是蚜虫系统学家普遍关注的焦点问题，这也正是为什么蚜虫类的基因测序主要集中在大蚜亚科、扁蚜亚科、蚜亚科和瘿绵蚜亚科的主要原因（表 1）。

昆虫分子系统学是一个由生物进化问题驱动的领域，而蚜虫又是一类有着特殊生物学和行为学特点的昆虫，对蚜虫起源演化的探讨无疑对推动整个昆虫进化理论研究的发展具有十分重要的意义。所以未来蚜虫分子系统学的发展方向仍然是通过构建系统发育树以探讨进化问题。在分子标记的选择及数据分析方法方面，不断尝试新基因以对蚜虫分子系统学领域进行充实和拓展，并最终寻求适合蚜虫

类的'标准标记'(standard marker)以增加同源序列之间的可比性及有条件的数据联合分析是未来发展的趋势和方向。另外值得一提的是:随着蚜虫分子序列的不断积累,加之由于蚜虫多型性等原因导致传统形态分类有时无能为力,蚜虫分子分类(molecular taxonomy)也有望在近期发展起来。

致谢 中国科学院动物研究所任珊珊阅读本文初稿并提出修改意见和建议;两位审稿老师对本文提出修改意见和建议,在此一并表示感谢。

参 考 文 献 (References)

Baker R, Yu X, DeSalle R, 1998. Assessing the relative contribution of molecular and morphological characters in simultaneous analysis trees. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 9(3): 427 – 436.

Baverstock PR, Johnson AM, 1990. Ribosomal RNA nucleotide sequence: a comparison of newer methods used for its determination, and its use in phylogenetic analysis. In: Ladiges PY, Martinelli LW eds. Plant Systematics in the Age of Molecular Biology. Melbourne: CSIRO. 101 – 110.

Benjamín OR, Andrés M, David MT, 2004. Melocular systematics of aphids (Homoptera: Aphididae): new insights from the long-wavelength opsin gene. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 30: 24 – 37.

Blackman RL, Eastop VF, 1994. Aphids on the World's Trees. An Identification and Information Guide. Wallingford: CAB International. 1 – 904.

Börner C, 1952. Europe Centralis Aphides, Die Blattläuse *Mitteleuropas*. *Mitt. Thuring. Bot. Ges. Beih.*, 4(3): 1 – 488.

Cameron SA, Derr JN, Austin AD, Woolley JB, Wharton RA, 1992. The application of nucleotide sequence data to phylogeny of the Hymenoptera. *A Rev. J. Hym. Res.*, 1(1): 63 – 79.

Caterino MS, Cho S, Sperling FAH, 2000. The current state of insect molecular systematics: a thriving tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 1 – 54.

Chen Y, Giles KL, Greenstone MH, 2002. Molecular evidence for a species complex in the genus *Aphelinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), with additional data on Aphidiine phylogeny (Hymenoptera: Braconidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 95(1): 29 – 34.

Cunningham CW, 1997. Can three incongruence tests predict when data should be combined? *Mol. Biol. Evol.*, 14: 733 – 740.

Danforth BN, Ji S, 1998. Elongation factor-1α occurs as two copies in bees: Implications for phylogenetic analysis of EF-1α sequences in insects. *Mol. Biol. Evol.*, 15(3): 225 – 235.

David MT, Celia B, Amparo L, Andres M, 2001. Molecular systematics of aphids and their primary endosymbionts. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 20(3): 437 – 449.

Dietrich CH, Fitzgerald SJ, Holmes JL, 1998. Reassessment of *Dalbulus* leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) phylogeny based on mitochondrial DNA sequences. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 91(5): 590 – 597.

Dixon AFG, 1990. Ecological interactions of aphids and their host plants. In: Campbell RK, Eikenbary RD eds. Aphid-Plant Genotype Interactions. Amsterdam: Elsevier. 7 – 19.

Dou XM, Xiao H, Huang DW, 2005. Gene sequences used in phylogenetic study on Chaldidoidea (Hymenoptera). *Acta Zootax. Sin.*, 30(1): 29 – 34. [窦向梅,肖晖,黄大卫,2005. 基因序列在小蜂总科分子系统发育研究中的应用. 动物分类学报,30(1): 29 – 34]

Einsele H, Hebart H, Rpller G, Loffler J, Rothenhofer I, Muller CA, Bowden RA, van Burik J, Engelhard D, Kanz L, Schumacher U, 1997. Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probe. *J. Clin. Microbiol.*, 35(6): 1 353 – 1 360.

Farris J, Kallersjo M, Kluge A, Bult C, 1995. Constructing a significance test for incongruence. *Syst. Biol.*, 44: 570 – 572.

Favret C, Voegtlin DJ, 2004. Speciation by host-switching in *Cinara* (Insecta: Hemiptera: Aphididae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 32(1): 139 – 151.

Figueroa CC, Simon JC, Le Gallic JF, Niemeyer HM, 1999. Molecular markers to differentiate two morphologically-close species of the genus *Sitobion*. *Entom. Exp. Appl.*, 92: 217 – 225.

Gauthier N, LaSalle J, Quicke DLJ, Godfray HGJ, 2000. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Syst. Entom.*, 25: 521 – 539.

Goolsby JA, Burwell CJ, Machinson J, Driver F, 2001. Investigation of the biology of the Hymenoptera associated with *Fergusonina* sp. (Diptera: Fergusoninidae), a gall fly of *Melaleuca quinquenervia*, integrating molecular techniques. *J. Hym. Res.*, 10 (2): 163 – 180.

Hedin MC, Maddison WP, 2001. Phylogenetic utility and evidence for multiple copies of elongation factor-1α in the spider genus *Habronattus* (Araneae: Salticidae). *Mol. Biol. Evol.*, 18(8): 1 512 – 1 521.

Heie OE, 1980. The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. I. General Part. The Families Mindaridae, Hormaphididae, Thelaxidae, Anoeciidae, and Pemphigidae. Klampenborg: Scandinavian Science Press Ltd. 1 – 236.

Huang Y, 1998. Molecular Systematics-Principle, Method and Application. Beijing: China Agriculture Press. 1 – 372. [黄原,1998. 分子系统学——原理、方法及应用. 北京:中国农业出版社. 1 – 372]

Huang Y, Liu Y, 2005. Strategy and methods for analyzing datasets from multiple sources in molecular phylogenetics. In: Ren GD, Zhang RZ, Shi FM eds. Classification and Diversity of Insects in China. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. 17 – 21. [黄原,刘艳,2005. 分子系统学研究中多源数据集的分析策略和方法. 见:任国栋,张润志,石福明 主编. 昆虫分类与多样性. 北京:中国农业科学技术出版社. 17 – 21]

Huelsenbeck J, Bull J, Cunningham C, 1996. Combining data in phylogenetic analysis. *Trends Ecol. Evol.*, 11(4): 152 – 158.

Inbar M, Wink M, Wool D, 2004. The evolution of host plant manipulation by insects: molecular and ecological evidence from gall-forming aphids on *Pistacia*. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 32(2): 504 – 511.

Mardulyn P, Cameron SA, 1999. The major opsin in bees (Insecta: Hymenoptera): A promising nuclear gene for higher level phylogenetics. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 12: 168 – 179.

Martin JA, Pashley DP, 1992. Molecular systematic analysis of butterfly

family and some subfamily relationships (Lepidoptera: Papilionidae). *Ann. Ent. Soc. Am.*, 85: 127–135.

Miller BR, Crabtree MB, Savage HM, 1997. Phylogenetic relationships of the Culicomorpha inferred from 18S and 5.8S ribosomal DNA sequences (Diptera: Nematocera). *Insect Mol. Biol.*, 6(2): 105–114.

Moran NA, 1988. The evolution of host-plant alternation in aphids: Evidence for specialization as a dead end. *Am. Natt.*, 132: 681–706.

Moran NA, 1989. A 48-million-year-old aphid-host plant association and complex life cycle, biogeographic evidence. *Science*, 245: 173–175.

Moran NA, 1992. The evolution of aphid life cycles. *Annu. Rev. Entomol.*, 37: 321–348.

Moran NA, Kaplan ME, Gelsey MJ, Murphy TG, Scholes EA, 1999. Phylogenetics and evolution of the aphid genus *Uroleucon* based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Syst. Entomol.*, 24: 85–93.

Niu YD, Li M, Wei FW, Feng ZJ, 2001. Reliability of mtDNA as molecular marker and its perspective. *Hereditas*, 23(6): 593–598. [牛屹东, 李明, 魏辅文, 冯祚建, 2001. 线粒体 DNA 用作分子标记的可靠性和研究前景. 遗传, 23(6): 593–598]

Normark BB, 1999. Evolution in a putatively ancient asexual aphid lineage: recombination and rapid karyotype change. *Evolution*, 53(5): 1 458–1 469.

Normark BB, 2000. Molecular systematics and evolution of the aphid family Lachnidae. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 14(1): 131–140.

Raghava GP, Solanki RJ, Soni V, Agrawal P, 2000. Fingerprinting method for phylogenetic classification and identification of microorganisms based on variation in 16s RNA gene sequences. *Biol. Techniques*, 29(1): 108–116.

Raychaudhuri DN, 1980. Aphids of Northeast India and Bhutan. Calcutta: the Zoological Society. 1–521.

Remaudière G, Remaudière M, 1997. Catalogue of the World's Aphididae. Homoptera Aphidoidea. Paris: INRA. 1–473.

Sanchis A, Latorre A, González-Candelas F, Michelena JM, 2000. An 18S rDNA-based molecular phylogeny of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 14(2): 180–194.

Shi M, Chen XX, van Achterberg C, 2005. Phylogenetic relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA, 28S rDNA D2, 18S rDNA gene sequences and morphological characters. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 37(1): 104–116.

Shingleton AW, Stern DL, 2003. Molecular phylogenetic evidence for multiple gains or losses of ant mutualism within the aphid genus *Chaitophorus*. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 26: 26–35.

Shingleton AW, Stern DL, Foster WA, 2005. The origin of a mutualism, a morphological trait promoting the evolution of ant-aphid mutualisms. *Evolution*, 59(4): 921–926.

Shufran KA, Burd JD, Anstead JA, Lushai G, 2000. Mitochondrial DNA sequence divergence among greenbug (Homoptera Aphididae) biotypes: evidence for host-adapted races. *Insect Mol. Biol.*, 9(2): 179–184.

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87: 651–701.

Stern DL, Aoki S, Kurosu U, 1997. Determining aphid taxonomic affinities and life cycles with molecular data: a case study of the tribe Cerataphidini (Hormaphididae: Aphidoidea: Hemiptera). *Syst. Ento.*, 22: 81–96.

Stern DL, 1994. A phylogenetic analysis of soldier evolution in the aphid family Hormaphididae. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 256: 203–209.

Stern DL, 1995. Phylogenetic evidence that aphids, rather than plants, determine gall morphology. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 260: 85–89.

Stern DL, 1998. Phylogeny of the Cerataphidini (Homoptera) and the evolution of the horned soldier aphids. *Evolution*, 52: 155–165.

Stern DL, Foster WA, 1996. The evolution of soldiers in aphids. *Biol. Rev.*, 71: 27–79.

Tautz D, Haucock JM, Webb DA, Tautz C, Dover GA, 1988. Complete sequences of the rRNA genus of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Biol. Evol.*, 5(4): 366–376.

von Dohlen CD, Gill DG, 1989. Geographic variation and evolution in the life cycle of the witch-hazel leaf gall aphid, *Hormaphis hamamelidis*. *Oecologia*, 78: 165–175.

von Dohlen CD, Moran NA, 1995. Molecular phylogeny of the Homoptera: a paraphyletic taxon. *J. Mol. Evol.*, 41: 211–223.

von Dohlen CD, Kurosu U, Aoki S, 2002. Phylogenetics and evolution of the eastern Asian-eastern North American disjunct aphid tribe, Hormaphidini (Hemiptera: Aphididae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 23: 257–267.

von Dohlen CD, 1990. Evolutionary loss of the secondary host in heteroecious aphids, phylogenetic evidence. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 25: 243–252.

von Dohlen CD, 1991. Ecology, Systematics, and Evolution of Complex Life Cycles of the Hormophidinae (Homoptera, Aphididae). Ph.D. Thesis, University of Maryland, College Park, MD.

von Dohlen CD, Moran NA, 2000. Molecular data support a rapid radiation of aphids in the Cretaceous and multiple origins of host alteration. *Biol. J. Linn. Soc.*, 71: 689–717.

Wool D, 1984. Gall forming aphids. In: Ananthakrishnan TN ed. Biology of Gall Insects. New Delhi: Oxford and IBH. 11–58.

Wool D, 2004. Galling aphids, specialization, biological complexity, and variation. *Annu. Rev. Entomol.*, 49: 175–192.

Wool D, Burstein M, 1991. A galling aphid with extra life cycle complexity, population ecology and evolutionary considerations. *Res. Popul. Ecol.*, 33: 307–322.

Zhang GX, Zhong TS, 1983. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 25: Homoptera: Aphidinea, Part I. Beijing: Science Press. 1–387. [张广学, 钟铁森, 1983. 中国经济昆虫志. 第二十五卷. 同翅目 蚜虫类(一). 北京: 科学出版社. 1–387]

Zhang YP, 1996. From DNA sequences to species tree. *Zoological Research*, 17(3): 247–252. [张亚平, 1996. 从 DNA 序列到物种树. 动物学研究, 17(3): 247–252]

(责任编辑：袁德成)